

HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS
POSTMORTALE VERHALTEN DER ALKALISCHEN UND SAUREN PHOSPHATASE
UNTER ANTIBIOTIKAEINFLUSS

von

ABBAS YAZDANFAR

7

1963



Digitized by the Internet Archive
in 2026

HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS
POSTMORALE VERHALTEN DER ALKALISCHEN UND SAUREN PHOSPHATASE
UNTER ANTIBIOTIKAEINFLUSS

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz

vorgelegt von

ABBAS YAZDANFAR

aus Teheran/Iran

MAINZ 1963

Dekan: Prof. Dr. med. et phil. K. Wagner
Referent: Priv. Dozent Dr. med. H. J. Wagner
Korreferent: Prof. Dr. med. et phil. K. Wagner
Tag der mündlichen Prüfung: 16. Dezember 1963



Gesamtherstellung: DITTERS BÜRODIENST
MAINZ - Augustinerstraße 64-66

MEINER FRAU GUDRUN
GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Hauptteil	2
I. Allgemeiner Überblick	2
1) Geschichte der Phosphatasen	2
2) Vorkommen der Phosphatasen	2
3) Aufbau der Phosphatasen	7
4) Bedeutung der Phosphatasen	8
a) In vivo	8
b) Post mortem	10
II. Eigene Untersuchungen	12
1) Tierexperimentelle Voruntersuchungen der alkalischen und sauren Phosphatase	12
a) Material und Methodik	12
b) Mikroskopischer Befund der Frischpräparate	12
2) Tierexperimentelle Untersuchungen der alkalischen und sauren Phosphatase unter Antibiotikaeinfluß	14
a) Material und Methodik	14
b) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach zweitägiger Lagerung	14
c) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach dreitägiger Lagerung	16
d) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach fünftägiger Lagerung	18
e) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach siebentägiger Lagerung	20
f) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach neuntägiger Lagerung	22
C. Diskussion	24
D. Zusammenfassung	27
E. Literaturverzeichnis	28

A. EINLEITUNG

Die Entdeckung und erste Erforschung der Enzyme fällt in die Jahre 1907-1915. Obwohl also seit den Anfängen der Enzymforschung kaum 50 Jahre vergangen sind, hat doch dieses Arbeitsfeld im Laufe der Jahre sehr erheblich an Bedeutung gewonnen. Es gelang mit der Zeit immer mehr, eine schärfere Abgrenzung zwischen den Gruppen sowie auch den einzelnen Enzymen selbst vorzunehmen, was auch im weiteren Verlauf dieser Arbeit zur Sprache gebracht werden wird. Insonderheit interessieren heute ihre Substrate, ihr Verhalten gegenüber dem pH-Optimum im Organismus sowie ihre Empfindlichkeit in Anwesenheit verschiedener chemischer Stoffe, wie Aktivatoren und Inhibitoren. Im lebenden Organismus haben diese Enzyme ihre ganz bestimmte Aufgabe im Bereich der Stoffwechselregelung. Nach dem Tode führt durch Verlust des geordneten Stoffwechselgleichgewichts der durch die Enzyme herbeigeführte Stoffwandel zur Autolyse.

Es hat sich gezeigt, daß diese Vorgänge in ihrem natürlichen Ablauf eine Veränderung erfahren können, wenn dem Organismus vor seinem Ableben Antibiotika zugeführt wurden. Diese Tatsachen aber haben ihre besondere Bedeutung darin, daß sie wesentlich dazu beitragen, das Alter einer Leiche annähernd zu bestimmen, was im Bereich der gerichtlichen Medizin von hohem Wert ist.

Vorliegende Arbeit hat daher zur Aufgabe, das Verhalten einiger Enzyme, der alkalischen und sauren Phosphatase, unter Einfluß von Penicillin und Tetracyclin post mortem histochemisch zu untersuchen.

B. HAUPTTEIL

I. ALLGEMEINER ÜBERBLICK ÜBER DIE PHOSPHATASEN

1) Geschichte der Phosphatasen

Im Jahre 1907 konnte an Pflanzen (42) und ein Jahr später am tierischen Organismus (24) gezeigt werden, daß es ein Enzym gibt, welches die Fähigkeit besitzt, Phosphorsäureester katalytisch zu hydrolysieren. Im Laufe der nächsten Jahre haben die Arbeiten von Neuberg und Karczag (27), Levene und Medigreceanu (21), v. Euler und Mitarbeiter (9), Grosser und Husler (16) und Plimmer (34) gezeigt, wie weit diese Enzyme in tierischen und pflanzlichen Geweben verbreitet sind. Zehn Jahre lang, von 1913 bis 1923, sind keine weiteren Fortschritte in der Forschung über diese Enzyme gemacht worden, bis Robison (37) im Jahre 1923 die Bedeutung der Phosphatase für die Knochenbildung (Ossifikation) gefunden hat.

In der Folgezeit wurden die Phosphatasen einem so eingehenden Studium unterworfen, daß man sie in verschiedene Untergruppen einteilen und ihr Vorkommen in tierischen und pflanzlichen Geweben beschreiben konnte. Sie haben heute eine klinische Bedeutung für viele diagnostische Fragestellungen, weil sie im Serum bei verschiedenen Krankheiten quantitativ von der Norm abweichen. Folgende Tabellen (I und II) geben einen Überblick über die Zusammenstellung der zur Zeit gültigen Einteilung der Phosphatasen (S.3 und 4).

2) Vorkommen der Phosphatasen

Aus den Arbeiten von Takamatsu (43), Gomori (12) und Abderhalden (1) kann man das Vorkommen und die Verteilung der Phosphatasen in tierischen Organismen ansehen.

Das Binde- und Fettgewebe:

Wie Takamatsu berichtet, haben diese Gewebe keine Phosphatase-Reaktion gezeigt, aber er fand, daß einige Fettzellen im Thymusgewebe eines menschlichen Neugeborenen diese Reaktion aufwiesen.

Das Herz und Gefäßsystem:

Das Endokard, die Herzmuskelfasern und die Herzklappen lassen die Phosphataseaktion gewöhnlich nicht erkennen. In den Blutgefäßen, im Endothel, ist sie manchmal positiv im Gegensatz zu ihrem Auftreten in Muskelfasern. Öf-

Tabelle I: Einteilung der Phosphatasen nach der Substratspezifität, dem pH-Optimum und den wichtigsten Aktivatoren und Inhibitoren. Nach Deane, H. W. (6)

Name	Substrate	gewöhnliches pH-Optimum	Aktivatoren	Inhibitoren
Phosphomonoesterasen				
Unspezifisch				
Typ I (alkalische) . . .	zahlreiche Monoester	9, 2 - 9, 4	Mg ⁺⁺ Alanin ?	-SH-Verbindungen; KCN; Be ⁺⁺
Typ II (saure)	zahlreiche Monoester	5, 2 - 5, 4	?	F ⁻ , Mo ⁺⁺ , L-Tartrat
Typ III (saure)	zahlreiche Monoester	3, 4 - 4, 2	Ca ⁺⁺ (veränderlich)	Mg ⁺⁺
Typ IV (saure)	zahlreiche Monoester	5, 2 - 6, 2	Mn ⁺⁺ , Mg ⁺⁺	(veränderlich) ?
Spezifisch				
5'-Nucleotidase	Adenosin- oder Inosin- 5'-Phosphat	ca. 7, 5	Mg ⁺⁺	?
Glucose-6-phosphatase	Glucose-6-Phosphat	ca. 6, 5	Ca ⁺⁺	pH 5, 0; F ⁻ ; Zn ⁺⁺ Hitze; Phlorizin
Hexosediphosphatase	Fructose-1, 6-diphosphat	ca. 9, 5	Mg ⁺⁺ ; Cystein	Hitze
Acylphosphatasen	Acetylphosphat	?	?	Anionen
Phytasen	Phytinsäure (Inosithexa- phosphat)	7, 8 5, 5	Mg ⁺⁺ ?	? F ⁻

Tabelle II: Einteilung der Phosphatasen nach der Substratspezifität, dem pH-Optimum und den wichtigsten Aktivatoren und Inhibitoren. Nach Deane, H. W. (6)

Name	Substrat	gewöhnliches Optimum	Aktivatoren	Inhibitoren
Phosphodiesterasen				
Unspezifisch				
alkalische, saure	zahlreiche Diester	8, 8; 5, 0	?	?
Spezifisch				
Cholinphosphatasen				
(Lecithinasen C, D) . . .	Lecithin	sauer	?	?
Ribonuclease	RNA	alkalisch; sauer	?	?
Desoxyribonuclease	DNA	alkalisch; sauer	?	?
Polyphosphatasen				
Anorg. Pyrophosphatasen	Natriumpyrophosphat	9; 7, 2; 5, 2; 3, 7	Mg ⁺⁺	Ca ⁺⁺
Org. Pyrophosphatasen				
Thiaminpyrophosphatase	Thiaminpyrophosphat	alkalisch; sauer	?	?
Adenosintriphosphatasen	ATP	9, 0 (Myosin)	Ca ⁺⁺ ; -SH-Verbindung; ? Mg ⁺⁺	Mg ⁺⁺ ; -SH-Reagenzien ? Ca ⁺⁺
		(Mitochondrien)	-SH-Verbindung	-SH-Reagenzien
		6, 8 (Sarcosome)	Mg ⁺⁺	Ca ⁺⁺
Metaphosphatasen	Natrium "hexametaphosphat"	?	-SH-Verbindung	-SH-Reagenzien
Phosphoamidasen	Creatinphosphat; Anilidophosphat	9, 0; 4, 5	?	?
			Aminosäuren; Mn ⁺⁺	Mg ⁺⁺

ters findet man diese Reaktion an neugebildeter Kapillarwand in dem Granulations- und Geschwulstgewebe. Das Lymphgefäß zeigt gewöhnlich negative Reaktion.

Das Blut und die hämatopoetischen Organe:

J. Roche konnte biochemisch nachweisen, daß Erythrozyten enzymhaltig sind, aber Takamatsu konnte dies durch histochemische Untersuchungen nicht besträtigen. Die granulären Leukocyten, d.h. die basophilen, neutrophilen und eosinophilen Leukocyten lassen ebenfalls eine Phosphatasereaktion erkennen. Blutplättchen zeigen spurweise, Lymphocyten und Histiocyten im Blut dagegen keine Phosphatasereaktion, ebenso nicht die Erythroblasten im Knochenmark sowie die Myelocyten, Myeloblasten und Retikuloendothelzellen. Der Enzymnachweis konnte hingegen in Megakaryocyten geführt werden.

Die Atmungsorgane:

Das Schleimhautepithel der Nasenhöhle und die Bindegewebsfasern der Tunika propria haben dieses Enzym nicht, während es in den Blutgefäßen nachweisbar ist. Die Schleimepithelien der Bronchiolen und der Alveolenwand verhalten sich negativ. Der Enzymnachweis in den Serösedrüsen der Submucosa ist positiv, in den Schleimdrüsen dagegen negativ. Zuweilen tritt die Phosphatase in den Knorpelzellen des Knorpelringes auf.

Der Verdauungsapparat:

An Zunge und Mundschleimhaut findet man das Enzym hin und wieder spärlich. In der Basalschicht, der Papilla fungiformis und in den quergestreiften Muskelfasern der Zunge ist die Enzymreaktion immer negativ. In den Zellen der Speicheldrüsen, nämlich der Glandula parotis, submandibularis und sublingualis und in deren Ausführungsgangepithelien sieht man dieses Enzym gewöhnlich nicht. In der Oberschicht des mehrschichtigen Plattenepithels der Speiseröhre ist die Phosphatasereaktion manchmal positiv, manchmal negativ. Die Schleimdrüsenzellen der Mucosa sowie die glatten und quergestreiften Muskelfasern weisen sie ebenfalls nicht auf. In der Schleimhaut des Magens, d.h. in den Haupt-, Beleg- und Nebenzellen und auch in dem Bindegewebe und den Muskelfasern läßt sich die Phosphatasereaktion nicht nachweisen. Dagegen ist die Schleimhaut der Därme, d.h. des Duodenums, des Jejunums, des Ileums, des Dickdarmes und des Wurmfortsatzes in der Reaktion stark positiv. Bindegewebe und Muskelfasern sind wie oben negativ. In der Tunika serösa der Därme und des Peritoneums tritt das Enzym nicht auf,

sowie auch nicht im Pankreas und dessen Epithelien der Ausführungsgänge und nicht in den Langerhans'schen Inselzellen.

Die Leber enthält zuweilen saure Phosphatase, zuweilen zeigt sie keine Reaktion: die Kupfferschen Zellen erweisen sich als positiv, besonders auch die randständigen Zellen der Lobuli. In den Gallengangepithelien und Schleimhautepithelien der Gallenblase ist die Reaktion gewöhnlich negativ im Gegensatz zu pathologischen Zuständen, in welchen die Leber eine starke Phosphatasereaktion zeigt. Die alkalische Phosphatase ist in jedem Falle in der Leber positiv.

Der Harnapparat:

In der Niere ist die Reaktion an den Epithelien der proximalen und distalen Teile der Tubuli contorti besonders stark. Dagegen ist sie an der Henleschen Schleife und den Zwischenstücken negativ. Verbindungsstücke zeigen das Enzym spärlich oder gar nicht. Die Endothelien des inneren und äußeren Blattes der Bowmanschen Kapsel und die Kapillarschlingen der Glomeruli färben sich beim Phosphatase-Nachweis unterschiedlich, manchmal schwach, manchmal gar nicht.

Die Harnblase: Das Ergebnis der Untersuchung dieses Enzyms am Epithel der Harnblase ist positiv, am Bindegewebe, den Gefäßen und Muskelfasern dagegen negativ.

Der Geschlechtsapparat:

Die Phosphatasereaktion ist in Hoden bzw. Samenzellen, nämlich Spermatogonien, Spermatocyten, Prä spermatiden, Spermatiden und schließlich auch Spermatozoen deutlich. Im Mitose-Stadium ist sie bei Spermatozoen besonders stark, dagegen spärlich in den Sertolischen Zellen. Tunika albuginea, das Bindegewebe und die Zwischenzellen reagieren negativ. Das Enzym zeigt sich im ausgekleideten Epithel des Rete testis Halleri nicht. Ebenso negativ ist die Enzymreaktion bei den Epithelien der Ductuli deferentes und des Ductus epidymidis. Die Prostata eines Erwachsenen besitzt einen großen Gehalt an sauren Phosphatasen.

Im Keimepithel des Ovariums tritt das Enzym deutlich auf, ebenso in den Epithelien des Graaf'schen Follikels und des Primärfollikels, in den Thekazellen dagegen gar nicht. Die glatten Muskel- und Bindegewebsfasern im Uterus zeigen negative Reaktion wie auch das Schleimhautepithel der Scheide.

Die Drüsen mit innerer Sekretion:

Der Enzymnachweis bei dem Follikel epithel der Schilddrüse ist negativ, ebenso bei den Hauptzellen in den Epithelkörperchen, bei den eosinophilen Zellen und den Hassalschen Körperchen. Die eosinophilen, basophilen und Hauptzellen des Hypophysenvorderlappens weisen keine Phosphatasereaktion auf. In dem Mark der Nebenniere zeigen die chromaffinen Zellen negative, die Rindenzellen spärliche Reaktion. Aber bei verschiedenen pathologischen Zuständen tritt in den Rindenzellen zuerst an der Zona reticularis, dann an der Zona fascicularis und endlich auch an der Zona glomerulosa das Enzym in Erscheinung.

Das Nervengewebe:

Im Nervengewebe, d.h. in den Nervenzellen, den Nervenfasern, der Neuroglia und dem Stützgewebe im zentralen und peripheren Nervensystem ist die Phosphatasereaktion gewöhnlich negativ wie auch in den Hüllen des Gehirns und des Rückenmarks.

Die Haut und ihre Anhangsgebilde:

Das Enzym tritt im Stratum corneum, lucidum und granulosum der Epidermis nicht, in geringem Maße jedoch in den Basalzellen des Stratum germinativum auf. Die Blutkapillarwand im Stratum papillare zeigt eine deutliche Enzymaktivität, die Nägel, Talg- und Schweißdrüsen dagegen gewöhnlich keine.

Das Muskel-, Knorpel- und Knorpelgewebe:

Die glatten, quergestreiften und Herzmuskelfasern verhalten sich negativ, wie bereits oben erwähnt.

Die Knorpelzellen zeigen in bezug auf ihren Funktionszustand das Enzym dann und wann; es findet sich in der Epiphyse bei wachsender Periode stark an den angeschwollenen Knorpelzellen der Knorpelsäulenzone und der dazwischenliegenden Grundsubstanz sowie auch an den Osteoblasten, Osteoklasten, Knochenzellen und an der Blutgefäßwand.

3) Aufbau der Phosphatasen

Albers (2) erklärt den Aufbau der Phosphatasen folgendermaßen:

Die Holophosphatase, das vollständige Molekül der Phosphatase, entsteht in einer Gleichgewichtsreaktion durch Vereinigung einer niedermolekularen

Komponente, der die Wirkungsgruppe enthaltenden Cophosphatase (Coenzym), mit einer spezifisch hochmolekularen, der Apophosphatase (Träger):



Dieser Satz konnte für zwei typische Vertreter der Phosphatasen, die im stark sauren Milieu wirkende Oberhefenphosphatase und die unter alkalischen Bedingungen wirksame Nierenphosphatase, in dem Sinne bewiesen werden, daß die beiden Stoffe durch die gleiche Cophosphatase oder durch zwei zumindest nahe verwandte Cophosphatasen zum vollständigen Enzym ergänzt werden (2).

"Die Wirkungsspezifität - das gleichmäßige Vermögen, Phosphorsäureester zu spalten - ist danach auf den gleichen Coenzymanteil, die pH-Spezifität auf die verschiedenen Apofermentanteile zurückzuführen" (3).

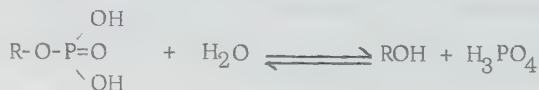
4) Bedeutung der Phosphatasen

a) In vivo

Wie schon oben erwähnt, fanden die Phosphatasen besondere Bedeutung erst, als im Jahre 1923 Robison die Knochenphosphatase beschrieb: bei Einwirkung des Enzyms auf Glucosephosphat in Gegenwart eines löslichen Kalziumsalzes entsteht das unlösliche Trikalziumphosphat. Dieser Vorgang wurde als Hypothese der Knochenbildung (Ossifikation) aufgestellt (1).

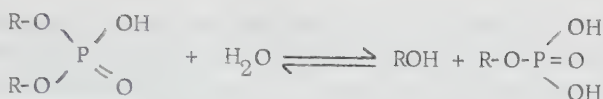
Die Entdeckung von Robison veranlaßte eine große Zahl weiterer Untersuchungen über Vorkommen, Einteilung, Eigenschaften und Aufgaben der Phosphatasen in tierischen Organismen (38). Aufgrund der verschiedenen Angriffspunkte der Phosphatasen wurde es klar, daß es zwei Arten der Phosphatasen gibt ^{*)}, die sich gegenüber den Substraten folgendermaßen verhalten:

α) die Phosphomonoesterasen, die die Monoester spalten:



β) die Phosphodiesterasen, welche Diester der Phosphorsäure in der Weise anzugreifen vermögen, daß sie nur eine der alkoholischen Komponenten freilegen unter Zurücklassung des Monoesters:

^{*)} siehe Tabelle I und II (Seite 3 und 4).



Der Charakter der Rest-R kann vielfach verschiedenartig sein:
 alkoholisch (aliphatisch)
 phenolisch (aromatisch)
 der Rest der Phosphorsäure selber (Pyrophosphat).

Für die Problemstellung dieser Arbeit interessieren uns von allen Phosphomonoesterasen nur die alkalischen und sauren Phosphatasen, da sie am meisten untersucht und in den Organismen am verbreitetsten sind.

aa) Die unspezifische alkalische Phosphatase (Phosphomonoesterase I)

Dieses Enzym besitzt eine weite Verbreitung in tierischen Geweben, am meisten in den wachsenden Knochen, in der Nierenrinde, Prostata und in der Schleimhaut des Darmes (39). Als Substrat werden eine große Zahl von Monophosphaten, nämlich 2-Glycerinphosphat, Phenylphosphat und Dihydroxyacetophosphat gebraucht. Das pH-Optimum, in dem das Enzym wirksam ist, liegt gewöhnlich bei 9 oder darüber. In den meisten Zellen des Organismus befindet sich eine Phosphatase, wodurch der Glucose-6-Phosphorsäureester angegriffen und dessen Glucose an die umgebende extrazelluläre Flüssigkeit abgegeben wird, um einen Ausgleich zwischen dem Blutzucker und dem abgebauten Leberglykogen in den Zellen zu schaffen.

Da die alkalische Phosphatase am häufigsten in der Niere vorkommt, wird sie von Albers Nieren-Phosphatase genannt (3). Die Rolle dieses Enzyms im Stoffwechsel des Organismus und der Zellen ist nicht vollkommen aufgeklärt. Man nimmt an, daß es in den Nierentubuli folgende Aufgabe leistet: In den Tubuluszellen der Niere tritt die Glucose während ihrer tubulären Rückresorption in ein reversibles System ein und wird durch die alkalische Phosphatase in einer konstanten und begrenzten Menge gebraucht, um ihren Transport vom Urin ins Plasma zu begrenzen. Der biologische Prozeß eines derartigen selektiven Mechanismus ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt. Es wird angenommen, daß die Rückresorption der Glucose zunächst über eine Phosphorylierung zu Glucose-6-Phosphat verläuft, wonach das Glucose-6-Phosphat aufgespalten wird, damit die Glucose ins Zellinnere und in die Blutbahn eindringen kann. Dies geschieht wie in allen anderen Körperzellen durch die Hexokinasereaktion, nämlich durch eine Transphosphorylierung mit Adenosintriphosphat (20). Die Aufspaltung erfolgt durch die alkalische Phosphatase,

welche sich besonders reichlich im Bürstensaum und in den Tubuluszellen des proximalen Tubulusabschnittes zeigt. Für die Begründung dieser oben beschriebenen Annahme spricht die hemmende Wirkung der Cyanide auf die Zellatmung durch Blockierung der Bildung von Adenosintriphosphat sowie die Glucose-rückresorption. Die Aktivatoren und Inhibitoren sind aus den Tabellen I und II zu ersehen.

bb) Die saure Phosphatase (Phosphomonoesterasen II, III, IV)

Von den drei unspezifischen Phosphomonoesterasen II, III und IV, die sich durch ihr pH-Optimum und ihr Verhalten gegenüber den Effektoren unterscheiden (siehe Tabelle auf S.3), ist die Phosphomonoesterase II in der Natur am verbreitetsten, besonders in den Pilzen, höheren Pflanzen und einigen tierischen Geweben. In verhältnismäßig großen Mengen befindet sich dieses Enzym in der Prostata des erwachsenen Menschen, in den Spermatozoen, der Leber, Niere und Milz (39). Die Substrate, die das Enzym mit abnehmender Geschwindigkeit in folgender Reihenfolge hydrolysiert, sind Phenylphosphat, 2-Glycerinphosphat, Adenosintriphosphat und 1-Glycerinphosphat. Je nach Herkunft des Enzyms ist das pH-Optimum auch unterschiedlich, aber es liegt am häufigsten bei 5,2 bis 5,4.

Näheres über die Aufgabe der Phosphomonoesterase II in tierischen Geweben weiß man bis heute nicht. Die meisten Untersuchungen über die Phosphomonoesterase II sind an der Prostata durchgeführt worden. Dem Enzym kommt die Bedeutung des sekundären Geschlechtsmerkmals chemischer Natur zu, weil sich der Gehalt an Phosphomonoesterase II in der Prostata vor der Pubertät nicht von dem Gehalt dieses Enzyms in den anderen Organen unterscheidet. Die Phosphomonoesterase III ist meistens in niederen Pflanzen und in geringen Konzentrationen in tierischen Organen wie Leber, Milz und Nieren und in noch kleineren Spuren in einigen anderen Organen vorhanden. Das pH-Optimum liegt zwischen 3,4 und 4,2.

Die Phosphomonoesterase IV findet man in den Erythrocyten, Hefen und Bakterien. Sie hat ein pH-Optimum zwischen 5,2 und 6,2.

Die Tabelle auf Seite 3 berichtet über die Aktivatoren und Inhibitoren dieser Enzyme.

b) Post mortem

An der Aufrechterhaltung und notwendigen Regelung der normalen chemischen Umsetzungen in lebenden Zellen sind die Enzyme maßgeblich beteiligt. Mit dem Ableben der Zelle hören diese Umsetzungen auf, und es treten an ihre

Stelle die komplizierten Prozesse, die man als Autolyse bezeichnet. Nach der Formulierung von Koslowski (45) ist die Autolyse der Verlust des geordneten Stoffwechselgleichgewichts, wobei in erster Linie durch Mitwirkung der Enzyme anstelle des Stoffwechsels ein Stoffwandel unter Schwund von Energie und Substanz erfolgt.

Die Beobachtungen haben gezeigt, daß nach dem Tode der Zelle infolge Auflösung der Zellstruktur bei einigen Enzymen eine Schwächung bzw. Inaktivierung, bei anderen dagegen eine verstärkte Reaktionsfähigkeit auftritt. Die Folge davon ist, daß gewisse Stoffumsätze ungewöhnlich stark in den Vordergrund treten, während andere des normalen Zellebens fast verschwinden; bei der Auflösung der Zelle verlieren die Atmungsenzyme zum größten Teil ihre Funktion. Die hydrolysierenden Enzyme der Kohlenhydrate und Eiweißstoffe dagegen zeigen eine Aktivierung. Der Abbau der vier Hauptsubstanzen, die der Zusammensetzung der Zelle entsprechen, nämlich der Kohlenhydrate, Fette, Eiweißsubstanzen und der sich daran angliedernden Phosphorverbindungen, geschieht während der Autolyse durch körpereigene und organspezifische Enzyme, die auch zu Lebzeiten in den geregelten intermediären Stoffwechsel des Organismus eingreifen.

Erfahrungen lehrten, daß bei den autolytischen Prozessen bald Säuren verschiedener Art auftreten. Severinghaus (17) fand bei ungestört und ohne Zusatz in vitro abgelaufenen Autolyseprozessen Phosphorsäure. Rona und Mislowitz (17) bestätigen an Kaninchenlebern eine Zunahme des anorganischen Phosphors und vermuteten deshalb, daß das Auftreten des anorganischen Phosphors auf eine enzymatische Aufspaltung der Phosphatide und Nukleine durch Phosphatasen und Nukleosidasen zurückgeführt werden kann.

Es hat sich darüber hinaus gezeigt, daß die Antibiotika die Erhaltung einiger Enzyme post mortem beeinflussen. Diese Probleme wurden im Bereich der Phosphatasen (alkalische und saure Phosphatase) eingehend untersucht und finden im Kapitel II ihre Darstellung.

II. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1) Tierexperimentelle Voruntersuchungen der alkalischen und sauren Phosphatase

a) Material und Methodik

Für die gesamten Versuche zu dieser Arbeit kamen 42 weibliche Albinoratten des gleichen Zuchtstammes von je ca. 200 ± 15 g und zwei Kaninchen zur Verwendung. Davon wurden 14 Ratten und die zwei Kaninchen zu den Vorversuchen und der Rest von 28 Ratten zu den Hauptversuchen gebraucht. Von diesen unterzog ich 20 einer Antibiotikabehandlung (Penicillin und Tetracyclin), während die restlichen 8 für Leerversuche der Kontrolle dienten. Der Ernährungszustand der Tiere war bei allen der gleiche. In der ganzen Zeit bis zur Tötung wurde keine Hungerzeit eingelegt. Die Tötung der Ratten erfolgte durch Brechen des Genicks mit einer Durazange.

Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurden die Nieren herauspräpariert, in kleine Stücke zerteilt (ca. 3 mm dick) und in kaltem Aceton für den histochemischen Nachweis der sauren Phosphatase und in Alkohol für die alkalische Phosphatase fixiert. Die Methode der Fixierung und Entwässerung in kaltem Aceton bzw. Alkohol mit nachfolgender Paraffineinbettung ist diejenige, welche in der einschlägigen Literatur am meisten erwähnt wird (13).

Von den gut vorbehandelten, in Paraffin eingebetteten Gewebestücken wurden 6-8 μ dicke Schnitte hergestellt und in eine entsprechende Bebrütungslösung eingelegt und gefärbt (13). Allgemein wurden bei vorliegender Arbeit zu den Versuchen die Nieren bevorzugt, da Vorversuche ergaben, daß sich die Phosphatase im Nierengewebe besonders gut darstellen läßt.

b) Mikroskopischer Befund der Frischpräparate

Die Verteilung der alkalischen und sauren Phosphatase in den einzelnen Teilen der Niere ist nach der Gomori-Methode untersucht und in Tabelle III zusammengestellt worden.

Wie aus der Tabelle III zu ersehen ist, beschränkt sich die Lokalisation der alkalischen und sauren Phosphatase in der Nieren-Rinde hauptsächlich auf die Tubuli contorti I (proximaler Teil) sowie schwach auf das innere und äußere Blatt der Bowmanschen Kapsel, im Nieren-Mark auf die Tubuli contorti II (distaler Teil).

Die Abbildungen 1 und 2 zeigen, daß sich die Enzyme hauptsächlich in den Tubuli befinden.

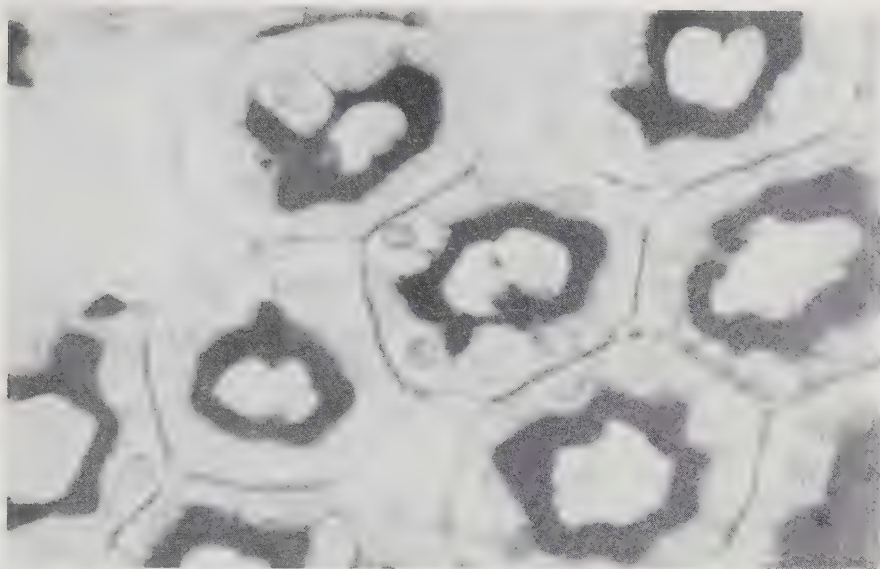


Abbildung 1. Darstellung der alkalischen Phosphatase, Frischpräparat. 640 fach.

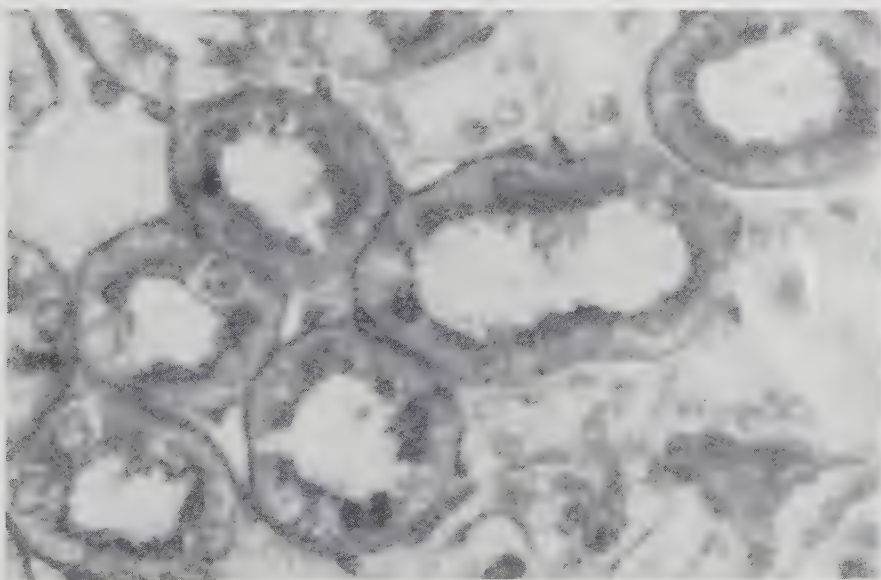


Abbildung 2. Darstellung der sauren Phosphatase. Frischpräparat. 640 fach.

Tabelle III: Die Lokalisation der Phosphatasen in verschiedenen Abschnitten der Niere

Nieren-Abschnitte		Phosphatase	
		alkalische	saure
Rinde	Bowmansche Kapsel: äußeres Blatt	(+)	(+)
	inneres Blatt	(+)	(+)
	Glomerulus	(+)	(+)
	Tubulus contortus I; proximaler Teil	++	++
	Sammelrohr	-	-
	intima	-	-
	Blutgefäße: media	-	-
Mark	adventitia	(+)	-
	Tubulus contortus II; distaler Teil	+++	+++
	Henle'sche Schleife	-	-
	Ductus papillares	-	-
	intima	-	-
	Blutgefäße: media	-	-
	adventitia	(+)	-

2) Tierexperimentelle Untersuchungen der alkalischen und sauren Phosphatase unter Antibiotikaeinfluß

a) Material und Methodik

Für jeden Versuch wurden sechs weibliche Albinoratten verwendet. Der Ernährungszustand war bei allen der gleiche. Es wurde berücksichtigt, daß die zu den Versuchen benutzten Tiere nicht an einer bakteriellen Erkrankung litten. Hinsichtlich der zeitlichen Dauer der Therapie und der Dosierung der Antibiotika fand eine Anlehnung an die bei einer ambulanten Behandlung gültigen Verhältnisse statt. Die Verabreichung großer Dosen von Antibiotika über längere Zeit hin wurde vermieden, weil diese Situation meistens nur bei einer stationären Behandlung eintritt. Die Auswahl der Antibiotika geschah nach der Arbeit von Wagner (45). Die Dosierungsverhältnisse für alle Versuchsgruppen sind aus der Tabelle IV zu ersehen:

Tabelle IV

Antibioticum	Dosierung/kg	Einzeldosis/Tag	
		1. Tag	2. Tag
Tetracyclin	1,43 mg	4	3
Penicillin - G - Natrium	860 I. E.	4	3

Wie die Tabelle IV zeigt, sind die Tiere mit Penicillin und Tetracyclin zwei Tage lang behandelt und zwei Stunden nach der letzten Antibiotika-Gabe mit einer Durazange getötet worden. Es wurden jeweils sechs Tiere zu jedem Versuch zusammengefaßt, und zwar wurden davon je zwei mit Penicillin zwei mit Tetracyclin behandelt und zwei unbehandelt als Kontrolltiere hinzugezogen. Die Lagerung der Tiere nach der Tötung erfolgte für die Dauer von 2, 3, 5, 7 und 9 Tagen in einem Kellerraum mit einer durchschnittlichen Temperatur von 16,5°C und einer durchschnittlichen relativen Luftfeuchtigkeit von 69,7%. Die Feuchtigkeits- und Temperaturverhältnisse wurden jeden Tag überprüft.

b) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach 2-tägiger Lagerung

α) Makroskopischer Befund

aa) Leerguppe:

Am zweiten Tag, also 48 Stunden nach der Tötung, wurden äußerlich an den Tierkadavern keine auffallenden Veränderungen beobachtet. Bei der Eröffnung

von Brust- und Bauchhöhle trat kein Fäulnisgeruch auf. Die Bauchdecke war frisch und nicht mißgefärbt. Das Herz zeigte dunkelbraune Farbe. Die Lungen waren lufthaltig und nicht verfärbt. Geringe Blähung wiesen Magen sowie Dünn- und Dickdarm auf. Die Leber war zum Teil dunkelschwarz, die Milz dagegen grauschwarz und die Nieren dunkel-rot-braun.

bb) Penicillingruppe:

Äußerlich wurden bei dieser Versuchsgruppe keine Veränderungen wahrgenommen. Nach Aufschneiden der Brust- und Bauchhöhle zeigte sich im Bauchraum und Verdauungskanal kein Fäulnisgas. Es entstand der Eindruck, als ob die Sektion unmittelbar nach dem Tode erfolgt sei, weil die Bauchdecke frisch ohne irgendeine Verfärbung war und die Organe im Brust- und Bauchraum noch ihre normale Farbe und Konsistenz zeigten.

cc) Tetracyclingruppe:

Der makroskopische Befund dieser Versuchsgruppe wies die gleichen Sektionsergebnisse wie bei der Penicillingruppe auf.

ß) Mikroskopischer Befund

aa) Leerguppe:

Alkalische Phosphatase:

Hier zeigt sich unter dem Mikroskop bereits ein wesentlicher Unterschied gegenüber dem Frischpräparat. Man beobachtet eine allgemeine Ausbreitung des Enzyms teilweise in die Wand der Tubuli sowie gänzlich in die Lumina. Die Gewebsstruktur ist unverändert.

Saure Phosphatase:

Im Vergleich zum Frischpräparat ist das Bild auch hier wesentlich verändert. Die Lokalisation des Enzyms beschränkt sich nicht mehr allein auf die Innenwand der Tubuli, sondern es hat sich in das Cytoplasma der Tubuluszellen ausgebreitet und erfüllt darüber hinaus sogar die Lumina. Gegenüber dem Frischpräparat hat sich das Enzym vermehrt. An der Gewebsstruktur zeigt sich keine Veränderung.

bb) Penicillingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Im ganzen ist das Enzym im Vergleich zum Leerversuch nicht so stark entwickelt. Die Ausbreitung erfolgt in der Hauptsache in das Plasma der Tubuluszellen, während die Lumina weitgehend frei bleiben. Auch hier ist keine Gewebsstrukturveränderung wahrzunehmen.

Saure Phosphatase:

Das Enzym zeigt sich hier gegenüber den Leerversuchen in erheblich geringerer Menge. Seine Ausbreitung beschränkt sich im wesentlichen auf das Plasma der Tubuluszellen, doch bleiben die Lumina enzymfrei. Veränderungen des Gewebes sind nicht zu beobachten.

cc) Tetracyclingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Die Menge des Enzyms und seine Ausbreitung zeigt keine wesentlichen Unterschiede zum Penicillinversuch der alkalischen Phosphatase dieser Versuchsreihe.

Saure Phosphatase:

Das Enzym ist im Verhältnis zu den zuvor beschriebenen Versuchen sehr gering entwickelt. Seine Ausbreitung und sein Verhalten entspricht dem Bild des Penicillinversuches bei der sauren Phosphatase.

Schaut man zurück, so erkennt man, daß sich die Leerversuche scharf gegenüber den antibiotikabeeinflussten Präparaten absetzen, da die Lumina bei ersteren vom Enzym erfüllt, letztere frei bleiben.

c) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach dreitägiger Lagerung

α) Makroskopischer Befund:

aa) Leergruppe:

Diese Gruppe zeigte äußerlich außer einer leichten Bauchblähung keine Besonderheiten.

Bei Eröffnung der Bauch- und Brusthöhle entwich Fäulnisgas. Die Bauchdecken waren grau-grün. Brust- und Bauchraumorgane zeigten eine beginnende Fäulnisveränderung. Das Herz war weich und dunkelbraun bis schwärzlich gefärbt, die Lunge lufthaltig und mißfarbig. Magen und Därme wiesen eine mäßige Blähung und grau-grüne Verfärbung auf. Leber und Nieren waren dunkelschwarz und weich. Die Milz sah mißfarbig aus.

bb) Penicillingruppe:

Äußerlich zeigten die Tierkadaver keine besonderen Veränderungen. Es wurden keine Fäulnisgase beim Aufschneiden von Brust- und Bauchdeckenmuskulatur wahrgenommen, doch waren die Bauchdecken teilweise grau-grün verfärbt. Die im Brust- und Bauchraum sich befindenden Organe hatten eine weiche Konsistenz und wiesen leichte farbliche Fäulnisveränderungen auf. Die Nieren waren dunkelbraun bis schwarz verfärbt und weich.

cc) Tetracyclingruppe:

Der Zustand dieser Gruppe war im Verhältnis zur vorigen besser. Bei der Sektion wurde kein Fäulnisgeruch bemerkt und keine Mißfärbung der Bauchdecken und Organe der Brust- und Bauchhöhle beobachtet.

ß) Mikroskopischer Befund:

aa) Leergruppe:

Alkalische Phosphatase:

Auch hier zeigt sich eine Vermehrung des Enzyms gegenüber dem Versuch aa) der alkalischen Phosphatase. Durch die starke gleichmäßige Färbung innerhalb der Tubuli sind die Grenzen zwischen Tubuluszellen und Lumina nicht mehr zu erkennen. Die Gewebsstruktur ist erhalten. Die Kernfärbung ist größtenteils nicht gut zu sehen.

Saure Phosphatase:

Ein Vergleich mit dem Leerversuch der sauren Phosphatase nach zweitägiger Lagerung läßt eine Zunahme des Enzyms erkennen. Die Grenzen zwischen Tubuluswand und Lumina sind fließend. Die Gewebsstruktur und Kernfärbung ist gut erhalten.

bb) Penicillingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Hier ist im Vergleich zum entsprechenden zuvor beschriebenen Penicillinversuch das Enzym reichlich vermehrt, während das Bild im ganzen sich nicht wesentlich verändert hat. Die Lumina bleiben auch hier teilweise frei. Die Struktur des Gewebes sowie die Kernfärbung sind unverändert.

Saure Phosphatase:

Gegenüber dem Penicillinversuch nach zweitägiger Lagerung läßt sich hier eine Vermehrung des Enzyms feststellen. Die Ausbreitung beschränkt sich jedoch in der Hauptsache auf die Zellwände, während die Lumina weitgehend noch frei bleiben. Die Gewebsstruktur erscheint unverändert.

cc) Tetracyclingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Starke Vermehrung des Enzyms läßt sich auch hier beobachten. Die Lumina sind größtenteils gefüllt, aber ein Austritt ins Zwischengewebe ist noch nicht zu erkennen. Die Gewebsstruktur ist erhalten, doch geringfügig autolytisch verändert. Die Kernfärbung ist zum Teil nicht sehr deutlich.

Saure Phosphatase:

Gegenüber dem entsprechenden Versuch nach zweitägiger Lagerung ist der Enzymgehalt hier ebenfalls erheblich gesteigert. Die Ausbreitung des Fermentes beschränkt sich, wie bei allen zuvor beschriebenen Versuchen, auf die Tubuli, während keine Austritte ins Zwischengewebe zu beobachten sind. Die Gewebsstruktur erscheint teilweise von der Autolyse angegriffen. Die Kernfärbung ist größtenteils nicht gut zu sehen.

Rückschauend läßt sich zusammenfassend folgendes aussagen: Ein Vergleich mit den Präparaten der Versuchsreihe nach zweitägiger Lagerung der Tierleichen zeigt eine allgemeine Zunahme des Enzymgehaltes bei allen drei Versuchsreihen. Wesentliche Unterschiede innerhalb dieser Versuchsgruppe nach dreitägiger Lagerung lassen sich dazu zwischen den Präparaten der Leergruppen und denen der antibiotikabeeinflussten Versuche erkennen. Während erstere eine weitgehend gleichmäßige Verteilung des Enzyms in allen Teilen der Tubuli aufzeigen, können bei den Penicillinversuchen im allgemeinen freie Lumina, bei den Tetracyclingruppen teilweise gefüllte Lumina beobachtet werden. Die Zellwände der Tubuli beider antibiotikabeeinflussten Versuchsreihen sind gleichmäßig und kräftig gefärbt.

d) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach fünftägiger Lagerung

Δ) Makroskopischer Befund:

aa) Leergruppe:

Die Kontrolltiere dieser Serie ließen an dem Tag der Sektion eine Auftreibung des Bauches durch Fäulnisgase erkennen. Nach Öffnung der Kadaver war ein widerlicher Geruch wahrnehmbar. Sämtliche Organe befanden sich in einem deutlichen Fäulniszustand.

bb) Penicillingruppe:

Äußerlich wurde an den Tieren keine nennenswerte Veränderung beobachtet. Ein leichter Fäulnisgeruch war beim Aufschneiden des Bauches wahrzunehmen. Sonstige Veränderungen entsprechen denen der Penicillingruppe der Versuchsreihe c).

cc) Tetracyclingruppe:

Bei dieser Gruppe befand sich ein Tier äußerlich in einem guten Zustand, während das andere an der ganzen Bauch- und Brustpartie graublaue Färbung und starke Bauchblähung durch Fäulnisvorgang aufwies. Bei der Öffnung des schlecht-

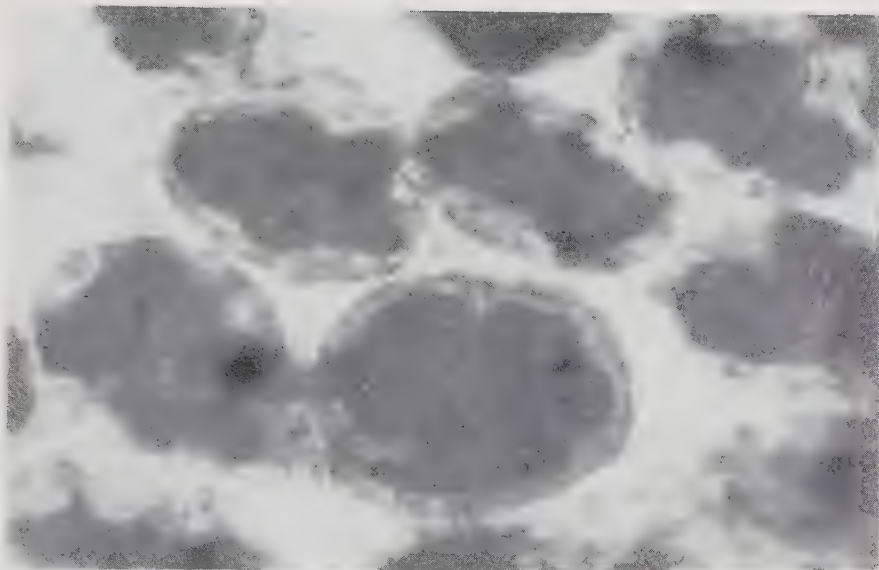


Abbildung 3. Darstellung der alkalischen Phosphatase nach dreitägiger Lagerung.
Leergruppe. 640 fach.



Abbildung 4. Darstellung der sauren Phosphatase nach dreitägiger Lagerung.
Penicillingruppe. 640 fach.

erhaltenen Tieres ließ sich ein Zersetzungsgeruch bemerken. Die Bauchdecken sahen mißfarbig aus. Sämtliche Organe vom Brust- und Bauchraum zeigten einen fortgeschrittenen Fäulniszustand. Sie waren zum Teil schlechter als bei den Kontrolltieren erhalten, wobei das gut erhaltene Tier einen Vergleich mit dem Zerfallzustand des Versuchstieres der Penicillingruppe zuließ.

β) Mikroskopischer Befund:

aa) Leergruppe:

Alkalische Phosphatase:

Auch hier hat die Menge des Enzyms merklich abgenommen ^{†)}. Aber eine Ausbreitung ins Zwischengewebe läßt sich noch immer nicht wahrnehmen. Die Kernfärbung ist geringfügig, während die Gewebsstruktur teilweise noch zu erkennen ist.

Saure Phosphatase:

Unter dem Mikroskop sieht man nur eine sehr schwache und unregelmäßige Färbung, die durch das Enzym der sauren Phosphatase hervorgerufen worden ist. Die Gewebsstruktur ist durch den autolytischen Prozeß soweit angegriffen, daß man sie teilweise sogar kaum noch erkennen kann. Die Kernfärbung läßt sich nur noch in geringem Maße beobachten.

bb) Penicillingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Eine allgemeine Abnahme des Enzymgehaltes ist hier ebenfalls zu beobachten. Die Kerne sind teilweise ebenso wie die Gewebsstruktur erhalten.

Saure Phosphatase:

Auch bei diesem Versuch zeigt sich eine starke Abnahme des Enzymgehaltes gegenüber den Präparaten der Penicillingruppe des vorangegangenen Versuchs (dreitägige Lagerung). Die Färbung ist hier lückenhaft, während die Gewebsstruktur noch erhalten ist. Die Zellkerne sind hier und dort sichtbar, jedoch autolytisch angegriffen.

^{†)} An dieser Stelle muß darauf hingewiesen werden, daß die farblichen Nuancen bei den Bildern (Schwarz-Weiß-Reproduktion) gegenüber den im Original sichtbaren mikroskopischen Präparaten nicht gut zum Ausdruck kommen. Die Färbung beim Originalpräparat erscheint wesentlich geringer als auf dessen photographischer Reproduktion. Diese Feststellung gilt generell für alle entsprechenden Bilder.

cc) Tetracyclingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Die allgemeine Abnahme der Enzymmenge ist in weitaus geringerem Maße zu beobachten als bei den anderen Präparaten dieser Versuchsreihe, doch zeigt sich auch hier eine Verringerung der Färbung gegenüber den entsprechenden Präparaten der vorigen Versuchsreihe (dreitägige Lagerung). Die Kernfärbung ist teilweise erhalten, wenn auch ein wenig verschwommen. Der Zustand der Gewebsstruktur ist relativ gut.

Saure Phosphatase:

Wieder zeigt sich allgemein eine erhebliche Abnahme der Enzymfärbung. Das Ferment befindet sich hauptsächlich an der Innenwand der Tubuli sowie in den Lumina, während die Tubuluszellen selbst enzymfrei sind. Eine Kernfärbung ist nicht zu erkennen. Die Gewebsstruktur ist nur in großen Zügen noch erhalten.

Überschaut man diese Versuchsreihe, so fällt gegenüber der vorangegangenen vor allem auf, daß sich im ganzen eine absteigende Tendenz in der Erhaltung der Enzyme bemerkbar macht. Dabei zeigt sich ein wesentlicher Unterschied zwischen den Leerversuchen und den antibiotikabeeinflussten Präparaten. Diese lassen die Abnahme des Enzymgehaltes sowie die Veränderung der Gewebsstruktur nicht so stark erkennen wie jene.

e) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach
siebentägiger Lagerung

Die Lagerung der zu diesen zwei folgenden Versuchsserien verwendeten Tiere fand in einem Kellerraum mit 20,6°C durchschnittlicher Raumtemperatur und bei 68,7%iger Luftfeuchtigkeit statt.

α) Makroskopischer Befund:

aa) Leergruppe:

Es wurde für diese und die folgende Leergruppe nur je ein Tier vorgesehen. Der äußere Zustand sowie der Befund nach Öffnung von Brust- und Bauchhöhle entsprach in etwa dem Bild, wie es bei den Kontrolltieren der Versuchsgruppe d) gefunden wurde. Die Nieren waren weich bis matschig.

bb) Penicillingrouppe:

Äußerlich waren außer einer leichten Blähung des Bauches keine wesentlichen Veränderungen festzustellen. Bei der Eröffnung der mißfarbig aussehenden Bauchdecken ließ sich kein Fäulnisgeruch wahrnehmen, und die mäßige Blä-

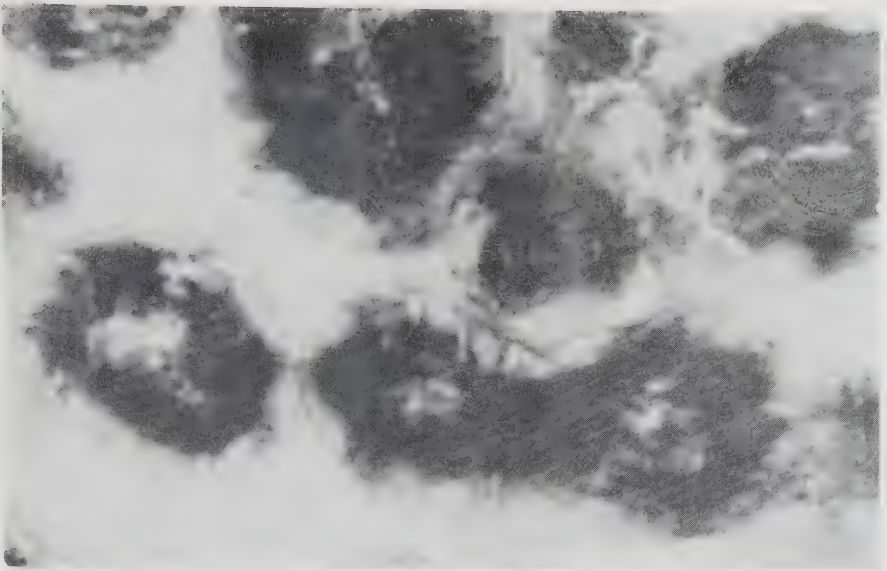


Abbildung 5. Darstellung der alkalischen Phosphatase nach fünftägiger Lagerung. Leergruppe. 640 fach.

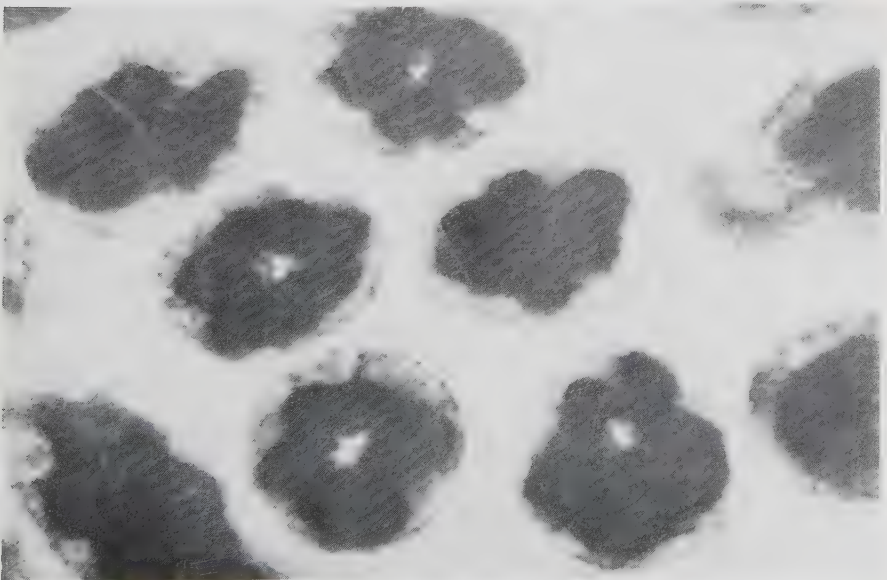


Abbildung 6. Darstellung der alkalischen Phosphatase nach fünftägiger Lagerung. Tetracyclingruppe. 640 fach.

lung des Verdauungskanal wurde offensichtlich. Der Zustand des einen Tierkadavers war gut, d.h. seine Organfarbe im Vergleich zu der des anderen war überraschend frisch, während das zweite Tier sich in einem fortgeschrittenen Fäulniszustand befand.

cc) Tetracyclingruppe:

Auch bei dieser Versuchsgruppe war der Zustand beider Tiere unterschiedlich, und zwar war eines im Vergleich zum anderen besser erhalten. Es zeigte sich bei dem einen Kadaver äußerlich eine Verfärbung der Bauchhaut und eine starke Auftreibung des Bauches, während beim anderen nur eine Verfärbung der Bauchhaut und keine Blähung des Abdomens zu erkennen war. Das Fell begann sich in Fetzen zu lösen. Nach der Öffnung von Brust- und Bauchhöhle des stark aufgeblähten Tieres entströmten Gase. Die Organe im Brust- und Bauchraum von beiden Tieren ließen eine frisch erhaltene Farbe feststellen.

β) Mikroskopischer Befund:

aa) Leerguppe:

Alkalische Phosphatase:

Der Enzymgehalt hat weiterhin abgenommen. Teilweise ist die Gewebsstruktur durch Autolyse derart angegriffen, daß sich das Enzym überall hin gleichmäßig ausgebreitet hat. Teils aber lassen sich auch noch relativ gut erhaltene Gewebsteile beobachten, wo sich das Enzym im wesentlichen noch immer auf die Tubuli und Lumina beschränkt. Kerne sind nicht mehr zu erkennen.

Saure Phosphatase:

Die Färbung erscheint im Vergleich zum vorigen Versuch ein wenig intensiver. Dagegen ist die Verteilung des Enzyms nicht mehr allein auf die Tubuli beschränkt, sondern man findet das Ferment teils auch in den Zwischengewebe. Von der Gewebsstruktur und der Kernfärbung ist meist kaum noch etwas wahrzunehmen.

bb) Penicillengruppe:

Alkalische Phosphatase:

Starke Abnahme des Enzymgehaltes ist auch bei diesem Präparat zu beobachten. Hier und da sind die Tubuli sogar gänzlich frei von Fermenten. Die Gewebsstruktur ist teilweise erhalten, doch stellenweise autolytisch auch sehr verändert, wo sich dann das Enzym ins Zwischengewebe hinein ausgebreitet hat.

Saure Phosphatase:

Das Enzym ist im stark autolytisch veränderten Gewebe nur noch schwach und sehr lückenhaft sichtbar.

cc) Tetracyclingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Die Abnahme des Enzymgehaltes, die sich auch bei diesem Präparat erkennen läßt, ist jedoch hier wieder, wie bei dem entsprechenden Versuch der vorhergehenden Reihe (fünftägige Lagerung), nicht so stark zu sehen im Vergleich zu den übrigen Gruppen. Das Enzym ist zum Teil in die Zwischengewebe diffundiert, doch ist die Gewebsstruktur noch in geringem Maße sichtbar. Zellkerne sind nicht mehr zu erkennen.

Saure Phosphatase:

Dieses Präparat ist lückenhaft und sehr schwach gefärbt, d.h. das Ferment ist weitgehend verschwunden. Die Autolyse ist so weit fortgeschritten, daß sich die Gewebsstruktur überhaupt nicht mehr beobachten läßt.

Vergleicht man die Ergebnisse dieser Versuchsreihe, so erkennt man eine weitere Abnahme des Enzymgehaltes sowie eine fortgeschrittene autolytische Veränderung im Gewebe. Die Zerfallserscheinungen sowohl bezüglich des Enzyms als auch der Gewebsstruktur sind bei den Leerversuchen wesentlich stärker als bei den Penicillin- und Tetracyclingruppen.

f) Makroskopischer und mikroskopischer Befund nach
neuntägiger Lagerung

a) Makroskopischer Befund:

aa) Leerguppe:

Das äußere Bild des Tieres war relativ wenig durch Fäulniseinflüsse verändert. Bei der Sektion ließ sich eine Ansammlung von Fäulnisgasen und Fäulnisflüssigkeit im Bauchraum erkennen. Der Zustand der Brust- und Bauchorgane war gut. Sie zeigten ein frisches Aussehen. Das Herz hatte eine rotbraune Farbe. Die in der Bauchhöhle liegenden Organe wie Leber, Milz und Nieren wiesen eine frische Farbe, jedoch eine weiche, die Nieren sogar eine matschige Konsistenz auf. Die Därme waren leicht gebläht.

bb) Penicillingruppe:

Die äußerliche Besichtigung ergab eine Blähung des Leibes. Bei Berührung löste sich das Fell in Fetzen ab. Die aufgeschnittenen Bauchdecken wiesen eine grau-grüne Farbe auf. Die Organe im Brust- und Bauchraum waren

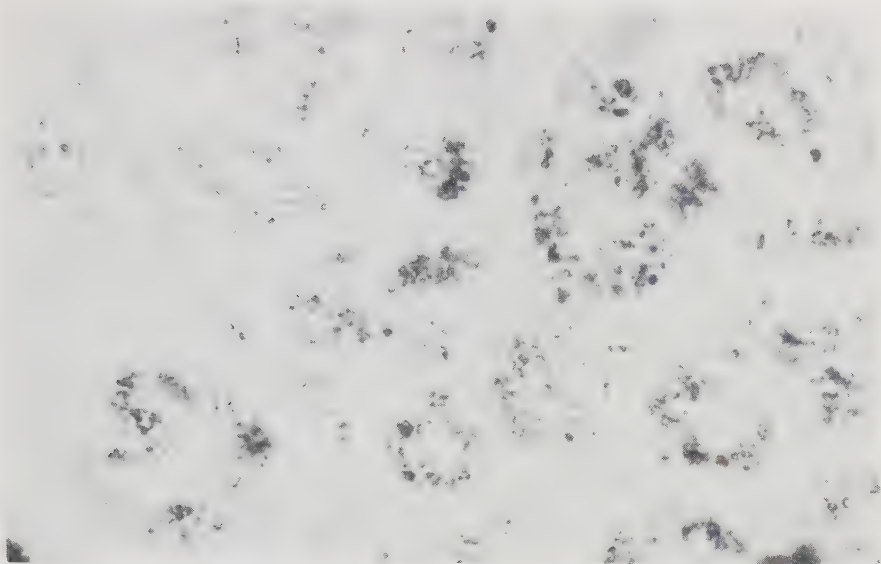


Abbildung 7. Darstellung der sauren Phosphatase nach siebentägiger Lagerung. Leergruppe. 640 fach.

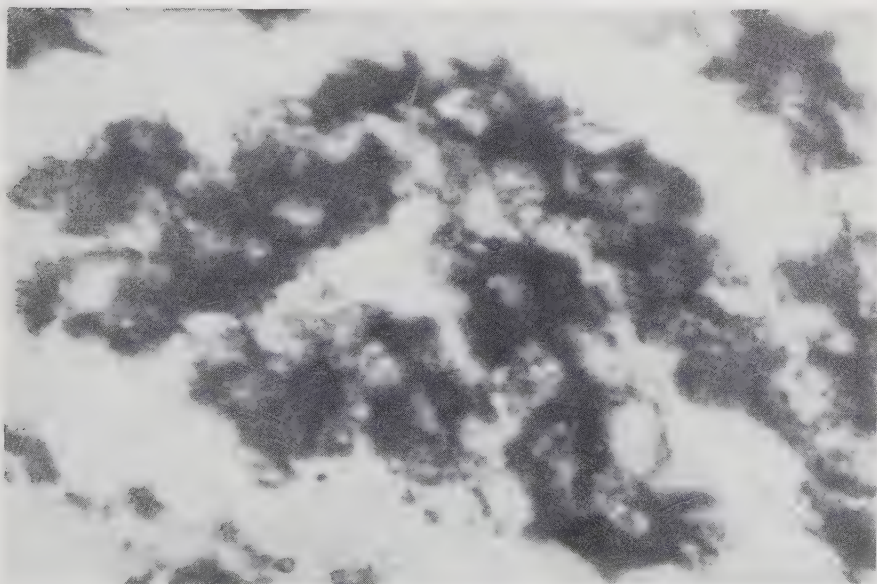


Abbildung 8. Darstellung der alkalischen Phosphatase nach neun-tägiger Lagerung. Tetracyclingruppe. 640 fach.

nicht mißfarbig und, da keine Fäulnisflüssigkeit im Bauch vorhanden war, zusammengeschrumpft. Der Verdauungstrakt war mittelstark gebläht. Sonst ergaben sich keine auffallenden Besonderheiten.

cc) Tetracyclingruppe:

Bei diesen zwei letzten Tieren schien äußerlich die Fäulniseinwirkung gleich weit fortgeschritten und es konnte außer einer leichten Auftreibung des Bauches und eines leichten Ablösens des Felles nichts festgestellt werden. Im Verlauf der Sektion wurden kein widerlicher Geruch und ebenso keine auffallenden Fäulnisprozesse bis auf eine braun-grünliche Verfärbung der Bauchdecken bemerkt. Die Nieren bei allen drei Versuchsgruppen waren matschig.

ß) Mikroskopischer Befund:

aa) Leerguppe:

Alkalische Phosphatase:

Hier ist nichts mehr vom Enzym zu finden und nichts mehr von der ursprünglichen Struktur des Gewebes zu sehen.

Saure Phosphatase:

Das Präparat weist wie auch bei obigem Versuch keinerlei Färbung auf. Das Enzym ist also ebenso wie die Gewebsstruktur nicht mehr vorhanden.

bb) Penicillingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Der Gehalt an Enzym hat hier im Vergleich zum entsprechenden vorigen Versuch (siebentägige Lagerung) weiterhin sehr abgenommen, doch ist es im stark autolytisch veränderten Gewebe diffus verbreitet enthalten.

Saure Phosphatase:

Das Enzym ist restlos verschwunden und das Gewebe autolytisch zerfallen.

cc) Tetracyclingruppe:

Alkalische Phosphatase:

Das Enzym ist an den meisten Stellen relativ gut festzustellen. Teils ist es in die Zwischengewebe diffundiert, teilweise jedoch noch in den ehemaligen Bereichen der Tubuli erhalten geblieben.

Saure Phosphatase:

Wie bei den meisten Versuchen dieser Reihe hat sich das Enzym hier völlig verloren, während die Gewebsstruktur gänzlich zerstört ist.

Ein Rückblick läßt erkennen, daß nach neuntägiger Lagerung der Tierkadaver sowohl die Versuche an der Leergruppe als auch die der sauren Phosphatase bei den antibiotikabeeinflußten Präparaten negative Ergebnisse erzielt haben, während die alkalische Phosphatase bei der Penicillin- und besonders bei der Tetracyclingruppe noch gut zu beobachten ist.

C. DISKUSSION

Als Versuchsmaterial zu dieser Arbeit dienten weibliche Albinoratten, die alle einen möglichst gleichen körperlichen Zustand aufwiesen. Um nach Möglichkeit eindeutige Ergebnisse zu erzielen, wurden immer zwei Tiere zu jedem Versuch hinzugezogen.

Die Behandlung der Ratten mit Antibiotika (Penicillin und Tetracyclin) erfolgte in Dosierung und Zeitdauer nach Art einer ambulanten Behandlung, da eine länger andauernde Applikation, die allgemein in der ärztlichen Praxis nur bei einer stationären Behandlung in Frage kommt, für die gerichtsärztlichen Interessen nicht von so großer Bedeutung sind. Allerdings wurden zu diesen Versuchen Tiere ausgewählt, die an keiner bakteriellen Erkrankung litten. Diese Tatsache entspricht zwar nicht den Gegebenheiten in der Humanmedizin, doch erschienen diese Maßnahmen zunächst angeraten, da man sich wegen des einheitlichen Ausgangsmaterials möglichst vergleichbare Werte zu erhalten versprechen mußte. Vorversuche, bei welchen außer der Niere auch noch die Leber und das Duodenum herangezogen worden waren, zeigten bei den Nierenpräparaten wesentlich bessere Ergebnisse, so daß zu den Versuchen der vorliegenden Arbeit allein das Nierengewebe verwendet wurde, da hierin das Enzym der Phosphatase reichlicher als bei den übrigen Organen zu finden war. Ebenso wurden bei den Vorversuchen verschiedene in der Literatur beschriebene Methoden zur Fixierung und Färbung der Präparate angewandt, wie sie u.a. von Karlheinz Neumann, W. Plenert, J. F. Burton und George Gomori beschrieben wurden. Unter diesen stellte sich dann die Methode nach Gomori als die zweckmäßigste heraus, welche daher für die vorliegende Arbeit ausschließlich zur Verwendung kam. Es zeigten sich dann folgende Ergebnisse:

Makroskopisch ließ sich beobachten, daß die Leergruppe aller Versuchsreihen sich gegenüber den mit Antibiotika behandelten Tiergruppen durch erheblich stärkere Zerfallserscheinungen auszeichnete. Außerdem war es auffällig, daß die mit Tetracyclin vorbehandelten Tierkadaver in den späteren Tagen im

ganzen einen besseren Erhaltungszustand aufwiesen, als die beiden anderen Versuchsgruppen.

Mikroskopisch konnte man in allen Versuchsreihen sowohl bei der alkalischen als auch der sauren Phosphatase zunächst eine allgemeine Steigerung des Enzymgehaltes bis zum dritten Tag feststellen, während die Präparate nach fünftägiger und längerer Lagerung sämtlichst, besonders aber bei der sauren Phosphatase ein stetes Abnehmen des Enzyms bis zum Verschwinden erkennen ließen. Die Leergruppen wiesen dabei eine schnellere Zunahme und Ausbreitung beider Enzyme sowie nachher auch eine schnellere Abnahme als die mit Antibiotika behandelten Gruppen auf.

Zwischen den mit Penicillin und Tetracyclin vorbehandelten Kadavern ergaben sich ebenfalls sowohl in der Ausbreitung und späteren Abnahme der Enzyme als auch in der Erhaltung der Gewebsstruktur Unterschiede: Während bei der Penicillingruppe bis zum dritten Tag eine langsamere Ausbreitung der Enzyme und bessere Gewbserhaltung als bei der Tetracyclingruppe zu finden waren, ließ sich nach fünftägiger Lagerung hinsichtlich der Verteilung der Enzyme bei beiden Gruppen ein ähnliches Bild erkennen. Die Gewebsstruktur erschien aber auch hier bei der Penicillingruppe besser erhalten. Am 7. Tag war zum ersten Male eine Ausbreitung der Enzyme ins Zwischengewebe bei beiden Gruppen festzustellen, was bei der Leergruppe schon am 5. Tage zu beobachten war. Von nun an schien das Gewebe bei den mit Penicillin behandelten Tieren schneller zu zerfallen, was ja auch dem makroskopischen Bild entspricht.

Seit dem 7. Tag ließ sich vor allem ein wesentlicher Unterschied in der Erhaltung der Enzyme zwischen der alkalischen und der sauren Phosphatase beobachten. Während letztere in der Intensität der Färbung schwächer und nach dem 7. Tag kaum und nach dem 9. Tag überhaupt nicht mehr erhalten war, zeigte die alkalische Phosphatase eine wesentlich größere Stabilität.

Fragt man nun nach der Ursache der unterschiedlichen Beobachtungsergebnisse innerhalb der beschriebenen Versuche, so läßt sich aufgrund der angestellten Untersuchungen keine eindeutige Erklärung geben, was in der Problemstellung dieser Arbeit auch nicht gefordert wurde.

An dieser Stelle muß auch erörtert werden, ob die durch Rattenversuche erzielten Ergebnisse und Werte auch auf die Zerfallerscheinungen im menschlichen Körper übertragen werden können. Diese Frage kann nicht ohne weiteres beantwortet werden und überschreitet auch den Rahmen dieser Abhandlung. Versuche zu diesem Problem stehen noch aus. Allgemein mag es jedoch evi-

dent geworden sein, daß der postmortale Enzymhaushalt des Organismus durch unmittelbar vor dem Tod erfolgte Antibiotika-Gaben länger und besser erhalten bleibt.

Weiterhin muß darauf hingewiesen werden, daß auch klimatische Faktoren wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Luftdruck, Lichteinwirkung sowie auch die Bodenverhältnisse an dem Ort, wo die Leiche gelegen hat, und nicht zuletzt auch der Inhalt des Magen-Darm-Kanals sowie viele weitere Umstände von einflußreicher Bedeutung bei der fortschreitenden Autolyse sein können. Diese Probleme wurden hier zunächst absichtlich außer acht gelassen, und man war bestrebt, möglichst gleichbleibende Bedingungen herbeizuführen, um vergleichbare Versuchsergebnisse zu erzielen, die zuerst einmal die Tatsache klar werden lassen sollten, daß der natürliche Enzymhaushalt durch den Einfluß von Antibiotika gestört werden kann.

Hier eröffnen sich neue Wege für die Todeszeitbestimmung, die in der gerichtsärztlichen Praxis von ganz besonderem Wert ist, da bei eventuellen Gewalttaten eine annähernd genaue Tatzeitbestimmung brauchbare Hinweise zur Auffindung des Täters geben kann.

D. ZUSAMMENFASSUNG

Ein kurzer allgemeiner Überblick über die Phosphatasen (Geschichte, Vorkommen, Aufbau und Bedeutung) leitet hinüber zum eigentlichen Thema und Ziel dieser Arbeit, nämlich zu histochemischen Untersuchungen über das postmortale Verhalten der alkalischen und sauren Phosphatase unter Antibiotikaeinfluß. Als Versuchsmaterial wurden die Nieren weiblicher Albinoratten, welche einen möglichst gleichen körperlichen Zustand besaßen, herangezogen. Man verwandte zu jeder Versuchsgruppe sechs Tiere, von denen je zwei mit Penicillin und Tetracyclin behandelt und zwei weitere unbehandelt zur Kontrolle hinzugezogen wurden. Man führte insgesamt fünf Versuchsgruppen durch, und zwar belief sich die Lagerungszeit der durch eine Durazang getöteten Tiere auf zwei, drei, fünf, sieben und neun Tage. Der mikroskopische Befund ergab, daß beide Enzyme in den medikamentös vorbehandelten Tierkadavern nicht so schnell dem autolytischen Prozeß unterlegen waren, wie in den unbehandelten. Es ergab sich dabei eine Differenz von etwa zwei bis drei Tagen, d.h. die Enzyme in den vorbehandelten Kadavern hielten sich ca. zwei bis drei Tage länger als in den unbehandelten. Allgemein ließ sich eine schnellere Auflösung der sauren als der alkalischen Phosphatase beobachten. Während erstere bereits nach neuntägiger Lagerung völlig verschwunden war, konnte letztere zu dieser Zeit noch deutlich festgestellt werden.

E. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abderhalden, R.: Alkalische und saure Phosphatasen. Klinische Enzymologie, Stuttgart (1958) 53
2. Albers, H. u. Mitarbeiter: Ber. dtsch. Chem. Ges. 71 (1938) 1913
3. Albers, H.: Phosphatase. Handbuch der Enzymologie, hrsg. von F.F. Nord u. R. Weidenhagen, Bd. I (1940) 411
4. Bradley, H. C.: Autolysis and atrophy. Physiol. Rev. Baltimore, 18, 173 (1938)
5. Burton, J. F.: Histological demonstration of alkaline phosphatase and nonspecific esterase by azo-dye methods. Nature (London) 173, 642-643 (1954)
6. Deane, H. W., Barnett, R. J., und A. M. Seligman: Phosphatasen. Handbuch der Histochemie, hrsg. von W. Graumann und K. Neumann, Bd. VII/1, Stuttgart (1960) 119-143
7. Eger, W.: Über Lebernekrosen und ihre Beeinflussung durch Penicillin. Ärztl. Forsch. 8, 517 (1954)
8. Eger, W.: Zur Frage einer unspezifischen Beeinflussung pathologischer Gewebsreaktionen durch Antibiotica und Sulfonamide an Hand experimenteller Untersuchungen. Verh. Dtsch. Ges. Path. 39, 123 (1950)
9. v. Euler u. Mitarbeiter: Hoppe-Seylers Z. 77, 484 (1912)
79, 375 (1912)
92, 292 (1914)
10. Gößner, W.: Untersuchungen über das Verhalten der Phosphatasen und Esterasen während der Autolyse. Virchows Arch. path. Anat. 327, 304 (1955)
11. Gomori, G.: Microtechnical demonstration of Phosphatase in tissues sections. Proc. Soc. exp. Biol., N. Y. 42, 362-364 (1939)
12. Gomori, G.: Distribution of acid phosphatase in the tissues under normal and under pathologic conditions. Arch. Path. 32, 189-199 (1941)
13. Gomori, G.: Microscopic Histochemistry. Univ. Chicago Press. Chicago (1952)

14. Grassmann, W. und J. Trupke : Enzyme. Physiologische Chemie, hrsg. von B. Flaschenträger unter Mitwirkung von E. Lehnartz, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1951) Bd. I, 981
15. Grogg, E. und A. G. E. Pearse : A critical study of the histochemical techniques for acid phosphatase with a description of an azo-dye method. J. Path. Bact. 64, 627-636 (1952)
16. Grosser, P. und J. Husler : Biochem. Z. 39, 1 (1912)
17. Heahn, H. : Autolyse. Erg. Enzymforsch. 5, 117 (1936)
18. Hoffmann-Ostenhof, O. : Zur Einteilung und Nomenklatur der übertragenden Enzyme. Enzymologie 14, 61-71 (1950)
19. Kabet, E. A. und J. Furth : A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues. Amer. J. Path. 17, 303-318 (1941)
20. Lang, K. : Der intermediäre Stoffwechsel. Berlin-Göttingen-Heidelberg (1952)
21. Levene und Medigreceanu : J. biol. Chem. (Am.) 9 (1911) 65, 389
22. Manheimer, L. H. und A. M. Seligman : Improvement in the method for the histochemical demonstration of alkaline phosphatase and its use in a study of normal and neoplastic tissues. J. nat. Cancer Inst. 9, 181-199 (1948)
23. Martin, B. F. und F. Jacoby : Diffusion phenomenon complicating the histochemical reaction for alkaline phosphatase. J. Anat. (London) 351-363 (1949)
24. McCollum, J. N. und Hart : J. biol. Chem. (Am.) 4, 787 (1908)
25. Menten, M. L., Junge, J. und M. H. Green : Distribution of alkaline phosphatase in kidney following the use of histochemical azo-dye test. Proc. Soc. exp. Biol., N. Y. 57, 82-86 (1944)
26. Menten, M. L., Junge, J. und M. H. Green : A coupling histochemical azo-dye test for alkaline phosphatase in the kidney. J. biol. Chem. 153, 471-477 (1944)
27. Neuberg, C. und Mitarb. : Biochem. Z. 36, 60 (1911)
28. Neuberg, C. und J. Wagner : Zur Kenntnis der Phosphatase und über die Darstellung von sauren Estern der Pyrophosphorsäure. Biochem. Z. 171, 485 (1926)

29. Neuberg, C. u. Mitarbeiter: Fortgesetzte Untersuchungen über den Wirkungsbereich der Phosphatase. *Biochem. Z.* 199, 498 (1928)
30. Neumann, K. : Über eine Methode der quantitativen Bestimmung der Phosphatasereaktivität in $2,5 \cdot 10^{-7}$ Milligramm Gewebe mittels histologischer Technik. *Die Naturwissenschaften*, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1949) 36, 89
31. Neumann, K. : Über histochemisch-quantitative Phosphatasebestimmung. *Verhandl. Anat. Ges.* 48. Vers., *Anat. Anz. Erg. H.* 97, 165-172 (1950)
32. Paul, D., Boyer, Henry, Lardy, K., Mayrbäck: Phosphatase. *The Enzymes*, Bd. I
33. Plenert, W. : Der histochemische Nachweis der alkalischen Phosphatase als Routinemethode. *Acta Histochemica*, Bd. 5, 79-85 (1958)
34. Plimmer, R. H. A. : *Biochem. J. (Brit.)* 7, 43 (1913)
35. Pratt, O. E. : The proportion of phosphatase activity demonstrable in brain by histological techniques. *Biochem. J.* 55, 149-154 (1953)
36. Pratt, O. E. : Some factors affecting rat brain phosphatase activity in fresh tissue suspensions and in histochemical methods. *Biochem. biophys. Acta* 14, 380-389 (1954)
37. Robison, R. : The probable significance of hexosephosphoric esters in ossification. *Biochem. J.* 17, 286-293 (1923)
38. Roche, J. : Phosphatase. in: J. B. Sumner und K. Mayrbäck *The Enzymes*, Bd. I (1), 473-510 (1950)
39. Roche, J. und N. v. Thoai: Phosphatase alcaline. *Advance Enzymol.* 10, 83-122 (1950)
40. Sulkin, N. M. and J. H. Gardner: The acid and alkaline phosphatase in the normal and recovering liver of the rat. *Anat. Rec.* 100, 143-158 (1948)
41. Sary, Z. : Stoffwechsel der Phosphatide. *Physiologische Chemie*, hrsg. von B. Flaschenträger und E. Lehnartz, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1954), Bd. II/1 b, 841

42. Suzuki, K., Yoshimura, K. und M. Takaishi: Tokyo Imp. Univ. Coll. Agric. Bull. 7, 305 (1907)
43. Takamatsu, H.: Histologische und biochemische Studien über die Phosphatase. I. Histochemische Untersuchungsmethodik der Phosphatase und deren Verteilung in verschiedenen Organen und Geweben. Trans. Jap. Path. Soc. 29, 492-498 (1939)
44. Tsuboi, K. K. und P. B. Hudson: Acid Phosphatase. III. Specific kinetic properties of highly purified prostatic Phosphomonoesterase. Arch. Biochem. 55, 191-205 (1955)
45. Wagner, H. J.: Die Bedeutung der Antibiotika und Sulfonamide für Todes- und Tatzeit-Bestimmung in der gerichtlichen Medizin. (1960)
Habilitationsschrift, Mainz
46. Wolf, A., Kobat, E. A. und W. Newman: Histochemical studies on tissue enzymes. III. A Study of distribution of acid phosphatase with special reference to the nervous system. Amer. J. Path. 19, 423-439 (1943)

Für die Überlassung des Themas und die Unterstützung der Arbeit danke ich Herrn Professor Dr.med.et phil. K. Wagner, Direktor des Instituts für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, sehr herzlich.

Weiterhin gilt mein besonderer Dank für die Anregung, wissenschaftliche Beratung und Betreuung dieser Arbeit und für die Übernahme des Referates Herrn Privatdozent Dr.med. H. J. Wagner.

Für alle freundlichen Ratschläge bin ich Herrn Privatdozent Dr. F. Petersohn zu Dank verpflichtet.

Nicht zuletzt den Damen und Herren des Institutes für ihr freundliches Verständnis bei meinen Versuchen verbindlichsten Dank.

LEBENS LAUF

Am 10. Mordad des Sonnenjahres 1310 (2. August 1931) wurde ich in Arak (Tafresh), Iran, als Sohn des Lehrers Hassan Yazdanfar und seiner Ehefrau Roba'eh Yazdanfar, geborene Motamedsadeh, geboren.

Nach unserem Umzug (1313) nach Teheran besuchte ich dort die Volks- und Höhere Schule mit dem Ziel der Reifeprüfung, die ich im Jahre 1953 (1332) bestand.

Mein Medizinstudium versuchte ich in Teheran anzufangen. Wegen eines Numerus clausus aber wurde ich zunächst nur zum Studium der Biologie zugelassen, was ich vier Semester lang betrieb. Als ich danach noch immer keinen Platz erhielt, kam ich nach Deutschland und immatrikulierte mich im Mai 1955 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz, wo ich im Januar 1962 das Staatsexamen bestand. Anschließend trat ich meine erste Stelle im Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik an den Mainzer Universitätskliniken an. Ab 2. Januar 1963 arbeite ich in der chirurgischen Abteilung des Amtskrankenhauses in Hemer.

